

등굴레 ‘건강백세’의 기내 대량번식

김만배¹, 박춘근², 이숙이³, 한봉희^{3*}

¹경상남도농업기술원, ²국립원예특작과학원 인삼특작부, ³농업기술실용화재단

In Vitro Micropropagation of *Polygonatum odoratum* cv. Gungangbeaksea

Man Bae Kim¹, Chun Geun Park², Sookyi Yi³ and Bong Hee Han^{3*}

¹Medicinal Plant research Team, Gyeongnam Agricultural Research and Extension Services, Hamyang 676-822, Korea

²Department of Herbal Crop Research, NIHHS, RDA, Eumseong 369-873, Korea

³Foundation of Agri. Tech. Commercialization & Transfer, Suwon 441-857, Korea

Abstract - The *Polygonatum odoratum* cv. Gungangbeaksea, bred in Gyeongsangnam-Do Agricultural Research & Extension Service, was cultured in vitro for micropropagate rapidly through the culture of rhizome explants (5 × 5 mm). The 7 × 7 mm explants of adventitious multi-bud clusters (AMC), obtained through the culture of rhizome explants (MS + 3.0 mg/L BA) were cultured on MS media with BA and TDZ. The shoot multiplication was favorable on the MS medium containing 3.0 mg/L TDZ with 2.8 in shoot number. But the formation of AMC was low in all media tested. The explants of AMC were cultured on MS media containing 1.0~5.0 mg/L TDZ and NAA to multiply AMC more. The formation of AMC was a little more stimulated on combined MS media of TDZ and NAA, than that with TDZ alone. The multiplication of shoots and AMC was favorable on MS media with 3.0 mg/L TDZ and 5.0 mg/L NAA, and 5.0 mg/L TDZ and 3.0 mg/L NAA. As the concentration of MS salts increased, the formation of AMC was decreased. But the formation of AMC was more stimulated, as the concentration of sucrose increased to 7%. Therefore, the multiplication of shoots and AMC was suitable on media containing 3.0~5.0 mg/L TDZ and NAA, and 7% of sucrose. The explants of AMC were rooted on media with 3.0 mg/L IBA, or 2.0 mg/L NAA with more than 80% in rooting ratio. The plantlets were treated at 5 °C for 8 weeks, and cultured *ex vitro* for 8 weeks. The survival ratio of plantlets were 100% in vermiculite, and the mixed soil with perlite 1 volumn and vermiculite 1 volumn.

Key words - Micropropagation, Sucrose, TDZ

서 언

등굴레속(*Polygonatum*) 식물은 세계적으로 약 40종이 북반구에만 분포하고 우리나라에는 16종이 분포하는 것으로 알려져 있다(Jang *et al.*, 2001). 이 식물군은 산과 들의 반음지 또는 음지에서 자생하는 다년생 식물로서 백합과(*Liliaceae*)에 속한다(Yun *et al.*, 2002). 등굴레속 식물은 영양번식과 종자번식이 모두 가능하지만 종자발아 중 상배축의 휴면으로 인하여 발아에 오랜 기간이 소요되기 때문에 실제로 등굴레를 재배할 경우 영양번식체인 지하경을 종묘로 사용하고 있다(Yun *et al.*,

2002). 그러나 낮은 번식률로 인하여 대규모 재배가 어려운 현실이다(Jeong and Sivanesan, 2012; Yoon and Choi, 2002). 따라서 번식이 어렵고 느리기 때문에 식물조직배양 기술은 등굴레를 빠르게 대량번식 할 수 있는 방법으로 생각된다(Jeong and Sivanesan, 2012). 등굴레 부정아, 잎, 줄기절편을 사용하여 기내에서 식물체를 재분화시키는 방법이 개발되었지만 지하경에서 식물체를 재분화하는 방법은 아직까지 보고되지 않았다(Bisht *et al.*, 2012; Yoon and Choi, 2002; Zhao *et al.*, 2003; 2009). 등굴레 ‘건강백세(*Polygonatum odoratum* cv. Gungangbeaksea)’는 경상남도 농업기술원에서 국내 약 200여 자생종 중에서 선발한 등굴레로, 생육은 왕성하나 교배가 안되는 특성을 가지고 있다. 따라서 본 연구는 등굴레 ‘건강백세’의

*교신저자(E-mail) : bhhan@efact.or.kr

지하경을 이용하여 기내에서 등굴레 '건강백세'를 대량으로 번식하고자 실시하였다.

재료 및 방법

식물체 재료 및 소독

식물체의 지하경을 배양하기 위하여 등굴레 '건강백세'(*Polygonatum odoratum* cv. Gungangbeaksea)를 경상남도농업기술원에서 분양받아 사용하였다. 등굴레의 지하경을 배양하기 위하여 지하경을 1 cm 정도로 절단하여 수돗물에 세척한 다음, 외피를 2 겹 정도 벗겨내고, 70% ethanol에 20초간 침지한 다음 멸균수로 3회 세척하였다. Ethanol에서 1차 소독한 지하경을 1%의 NaOCl 용액에서 15분간 멸균한 다음 멸균수로 3회 세척하여 배양하였다. 지하경에서 증식된 부정신초괴(adventitious multi-bud clusters : AMC)를 7 × 7 mm 크기로 절단하여 신초증식 및 발근 재료로 사용하였다.

부정신초괴의 증식 및 발근

등굴레 지하경 절편체를 MS 배지(Murashige and Skoog, 1962)에 BA 3.0 mg/L가 첨가된 배지에서 배양하면서 증식된 부정신초괴를 실험재료로 사용하였다. 부정신초괴의 증식을 촉진하기 위하여 MS 배지에 BA 3.0~10.0 mg/L, TDZ 0.5~3.0 mg/L, sucrose 30 g/L, plant agar (Duchefa, The netherlands) 8 g/L가 첨가된 배지에 pH를 5.8로 조절한 다음, 증식된 부정신초괴 7 × 7 mm 절편체를 8주간 배양하였다. 또한 부정신초괴의 증식을 촉진하기 위하여 MS 배지에 TDZ (1.0~5.0 mg/L)과

NAA (1.0~5.0 mg/L)가 혼용으로 첨가된 배지에서 부정신초괴 절편체를 8주간 배양하였다. MS 배지의 염류농도(1~3X)와 sucrose 농도(30~90 g/L)를 달리한 배지에 부정신초괴 절편체를 배양하여 배양 8주 후에 신초괴 증식에 미치는 영향도 조사하였다. 발근은 부정신초괴 절편체를 MS 배지에 IBA와 NAA가 각각 0.5~5.0 mg/L가 첨가된 배지에서 8주간 배양한 후 신초괴 발근상태를 조사하였다. 생산된 소식물체는 5℃에서 8주간 저온처리를 한 다음, 배양용토(perlite, vermiculite, peat moss)가 단용 또는 1:1로 혼용된 용토에서 8주간 순화하였다.

배양환경 및 식물체 조사

배양은 온도 25 ± 2℃로 조절되는 배양실에서 40 μmol·m⁻²·s⁻¹ 광도로 16시간/일 조명하였다. 부정신초괴 절편체는 400 ml 배양병에 9개씩 배양하여 3병으로 3반복하였다. 조사는 배양 8주 후에 신초수, 생체중, 소자구과 형성 정도, 발근율 등을 조사하였다. 실험결과는 Duncan's multiple range test로 통계처리 하였다.

결과 및 고찰

생장조절제, MS 염류농도, sucrose 농도에 따른 부정신초괴의 증식

부정신초괴를 증식시키기 위하여 MS 배지에 BA 3.0 mg/L가 첨가된 배지에서 증식된 부정신초괴 절편체(7 × 7 mm)를 BA 3.0~10.0 mg/L¹, TDZ 0.5~3.0 mg/L가 첨가된 배지에서 배양하였다. 배양 8주후, 신초의 증식은 TDZ 3.0 mg/L 첨가배지에서 2.8개로 가장 많았으며, 다음이 TDZ 2.0 mg/L, BA 10.0 mg/L

Table 1. Effect of cytokinins on shoot multiplication and increase of fresh weight of *Polygonatum odoratum* cv. Gungangbeaksea from sections of shoot clusters after 8 weeks of culture

Cytokinin (mg/L)	No. of shoots / explant	Shoot length (cm)	Fresh wt. (g) / explant	Formation of adventitious multi-bud clusters ^z
Control	1.3 b ^y	2.8 a	1.38 bc	-
BA 3.0	1.5 b	3.4 a	0.83 c	+
5.0	1.7 b	3.9 a	1.33 bc	+
10.0	2.3 ab	3.3 a	1.55 bc	+
TDZ 0.5	1.7 b	3.3 a	1.33 bc	+
1.0	1.5 b	4.3 a	1.63 ab	++
2.0	2.6 ab	4.2 a	1.85 ab	++
3.0	2.8 a	3.5 a	2.32 a	++

^z- : none, + : poor, ++ : moderate.

^yDuncan's multiple range test (P ≤ 0.05).

순이었다. 생체중도 TDZ 3.0 mg/L 첨가배지에서 절편체당 2.32g으로 가장 높게 나타났다. 그러나 부정신초괴의 증식은 BA 첨가배지보다는 TDZ 첨가배지에서 양호하였으나, 전반적으로 부정신초괴의 형성은 저조하였다(Table 1, Fig. 1A).

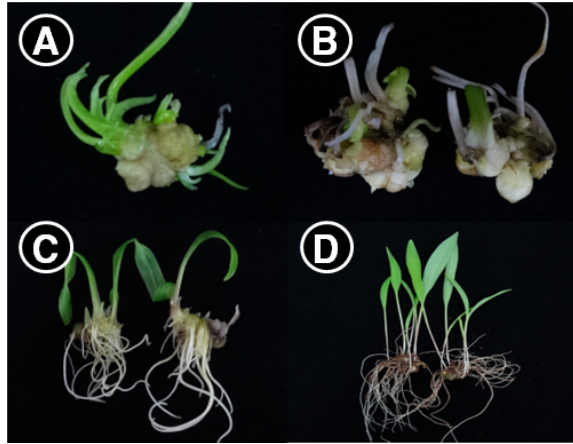


Fig. 1. Regenerated plants of *Polygonatum odoratum* cv. Gungangbeaksea grown *in vitro*. (A) The formation of adventitious multi-bud cluster on MS medium with 3.0 mg/L TDZ, (B) Multiplicated shoots on medium with 3.0 mg/L TDZ and 5.0 mg/L NAA, (C) Rooted explants of adventitious multi-bud clusters on medium containing 3.0 mg/L IBA, [D] Plantlets acclimated for 8 weeks in vermiculite.

Cytokinin은 보편적으로 지하부의 발육을 억제하고 지상부의 생육을 촉진한다고 알려져 있으며(Pennazio, 1975), cytokinin 중에서 BA는 활성이 높아 많은 작물의 증식에 사용되고 있다(Earle and Langhans, 1974; Chang *et al.*, 2007; Kim *et al.*, 2012; Takayama and Misawa, 1982). TDZ는 낮은 농도에서 분열조직의 형성 및 신초증식을 촉진하는 것으로 알려져 있으며(Fellman *et al.*, 1987), 많은 식물종에서 강력한 cytokinin과 유사한 효과를 나타내는 것으로 알려져 있다(Reynolds, 1987). 그러나 본 연구에서는 BA를 10.0 mg/L, TDZ를 3.0 mg/L까지 첨가하였으나 신초증식이 2.8개 이하로 낮았으며, 부정신초괴의 형성도 저조하였다(Table 1).

신초의 증식을 더 촉진하기 위하여 부정신초괴의 절편체를 TDZ와 NAA가 1.0~5.0 mg/L 혼용으로 첨가된 배지에서 배양하였다(Table 2). 배양 8주 후, 신초수는 TDZ 단독배지와 비교하여 크게 증가하지는 않았으나, 생체중 및 신초괴 증식이 증가하였다. 신초 및 신초괴의 증식은 TDZ 3.0 mg/L와 NAA 5.0 mg/L 첨가배지, TDZ 5.0 mg/L와 NAA 3.0 mg/L 첨가배지에서 약간 증가하였다(Fig. 1B). Skoog와 Miller (1957)가 식물의 기관형성은 auxin과 cytokinin의 균형에 의하여 좌우된다고 발표한 이후, auxin과 cytokinin을 혼용으로 첨가하여 신초를 증식하는 방법이 많은 식물의 대량번식에서 보고되고 있다. 일반적인

Table 2. Effect of TDZ and NAA on shoot multiplication and increase of fresh weight of *Polygonatum odoratum* cv. Gungangbeaksea from sections of shoot clusters after 8 weeks of culture

Treatment (mg/L)	No. of shoots / explant	Shoot length (cm)	Fresh wt. (g) / explant	Formation of adventitious multi-bud cluster ^z
Control	2.0 b ^y	3.1 b	1.09 b	-
TDZ 1.0 +				
NAA 1.0	2.7 a	5.4 ab	2.10 ab	+
NAA 3.0	3.8 a	6.8 a	2.32 ab	+
NAA 5.0	2.8 a	5.7 ab	2.56 ab	++
TDZ 3.0 +				
NAA 1.0	3.2 a	6.3 ab	2.45 ab	++
NAA 3.0	3.7 a	5.6 ab	2.61 ab	++
NAA 5.0	3.7 a	5.7 ab	2.93 a	+++
TDZ 5.0 +				
NAA 1.0	2.4 a	5.1 ab	2.63 ab	++
NAA 3.0	3.9 a	6.7 a	2.89 a	+++
NAA 5.0	3.7 a	6.2 ab	2.51 ab	++

^z- : none, + : poor, ++ : moderate, +++ : good.

^yDuncan's multiple range test (P ≤ 0.05).

로 신초의 증식은 증식배지에 고농도의 cytokinin과 저농도의 auxin을 혼용첨가하였을 때 증가한다는 것이 알려져 있다 (Earle and Langhans, 1974; Han *et al.*, 1997; Maesato *et al.*, 1994.). 본 연구에서는 TDZ와 NAA를 혼용으로 첨가하였으나 신초수는 3.7~3.7개로 증가하였으며, 부정신초괴의 형성은 약간 증가하였다. 이러한 결과는 동굴레가 고농도의 성장조절제에서도 크게 반응하지 않는다는 것을 알 수 있었으며, 아마도 동굴레의 특성에서 기인되는 것으로 생각되었다(Table 2). Jeong과 Sivanesan (2012)도 동굴레의 배양에서 동일한 결과를 보고하였으며, 2iP와 TDZ, 2,4-D를 혼용으로 첨가하였을 때 신초가 증식되었다고 보고하였다. 그러나 '건강백세'는 이러한 배지에서도 신초 및 부정신초괴의 증식이 촉진되지 않았다(결과미제시).

MS 염류와 sucrose 농도가 동굴레 신초 및 부정신초괴의 증식에 미치는 영향을 조사하기 위하여 부정신초괴 절편체를 MS 염류농도가 1~3배, sucrose 농도가 3~9% 첨가된 배지에서 배양하였다(Table 3, Table 4). 배양 8주후, 신초수 및 부정신초괴의 증식은 MS 염류농도가 높아질수록 저조하였다. 이러한 결과는 동굴레의 신초증식은 MS 기본농도에서 충분한 것으로 나타났다. 그러나 sucrose 농도에서는 sucrose 농도가 3%에서

7%로 증가함에 따라 신초수, 생체중 및 부정신초괴의 형성이 증가하였다. 이러한 결과는 구근류의 배양에서도 유사한 경향이었으며 Takayama와 Misawa (1979)는 *Lilium auratum*과 *speciosum*의 배양에서 MS배지에서 당농도가 증가할수록 자구 무게도 비례하여 증가하였으며, 9% 또는 12%의 당이 첨가된 배지에서 가장 생육이 양호하였다고 보고하였으며, Han *et al.* (2001)도 오리엔탈 나리의 배양에서 유사한 결과를 보고하였다. 따라서 동굴레 부정신초 절편체에서 신초 및 부정신초괴의 증식은 MS 배지에 TDZ와 NAA 3.0~5.0 mg/L와 sucrose 7%가 첨가된 배지가 적합하였다.

소식물체의 발근 및 순화

발근된 식물체를 생산하기 위하여 부정신초절편체를 IBA와 NAA 0.5~5.0 mg/L가 첨가된 배지에서 8주간 배양하였다. 배양 8주후, 발근율은 IBA 3.0 mg/L가 첨가된 배지에서 85% 이상으로 매우 높았다. 뿌리수도 IBA 0.5 mg/L 첨가배지를 제외하고 절편체당 11개 이상이었고, 뿌리길이도 모든 처리구에서 4.6 cm 이상으로 양호하였다. 생체중에서도 IBA 0.5 mg/L 첨가배지를 제외하고 모든 처리구에서 1,000 mg 이상으로 높게 나타났다

Table 3. Effect of MS salt concentration on shoot multiplication and increase of fresh weight of *Polygonatum odoratum* cv. Gungangbeaksea from sections of shoot clusters after 8 weeks of culture^z

MS salt strength	No. of shoots / explant	Shoot length (cm)	Fresh wt. (g) / explant	Formation of adventitious multi-bud cluster ^y
1x	3.7 a ^x	3.9 b	3.54 a	+++
2x	3.4 a	5.7 a	2.40 b	+
3x	2.7 a	4.1 b	2.19 b	-

^zMS medium was containing 3.0 mg/L TDZ and 5.0 mg/L NAA.

^y- : none, + : poor, +++ : good.

^xDuncan's multiple range test (P ≤ 0.05).

Table 4. Effect of sucrose concentration on shoot multiplication and increase of fresh weight of *Polygonatum odoratum* cv. Gungangbeaksea from sections of shoot clusters after 8 weeks of culture^z

Sucrose (mg/L)	No. of shoots / explant	Shoot length (cm)	Fresh wt. (g) / explant	Formation of adventitious multi-bud cluster ^y
30	2.7 a ^x	2.4 b	2.27 b	++
50	3.1 a	3.2 b	2.37 b	++
70	3.9 a	5.7 a	3.09 a	+++
90	2.6 a	2.3 b	2.53 b	++

^zMS medium was containing 3.0 mg/L TDZ and 5.0 mg/L NAA.

^y++ : moderate, +++ : good.

^xDuncan's multiple range test (P ≤ 0.05).

Table 5. Effect of auxins on rooting of shoots and increase of fresh weight of *Polygonatum odoratum* cv. Gungangbeaksea from sections of shoot clusters after 8 weeks of culture

Auxin (mg/L)	Rooting (%)	No. of shoots / explant	No. of roots / explant	Root length (cm)	Fresh wt. (mg) / explant
Control	37.0 c ^z	1.7 bc	5.7 c	4.8 bc	888 d
IBA 0.5	39.3 bc	1.4 bc	6.0 c	4.6 bc	876 d
1.0	57.4 abc	1.2 c	21.2 a	8.7 a	1,407 bcd
2.0	63.0 abc	2.1 abc	15.1 b	7.0 ab	1,395 bcd
3.0	85.2 a	1.7 bc	14.3 b	5.7 bc	1,502 abc
5.0	77.8 a	1.8 bc	21.7 a	5.8 bc	1,078 cd
NAA 0.5	64.8 abc	2.1 abc	15.8 b	7.2 ab	1,636 abc
1.0	72.2 ab	2.0 abc	15.3 b	5.7 bc	1,708 ab
2.0	81.5 a	2.7 a	14.8 b	5.6 bc	2,059 a
3.0	74.1 ab	1.5 bc	14.6 b	3.6 c	1,854 ab
5.0	51.8 abc	1.3 c	11.7 b	4.9 bc	1,484 abc

^zDuncan's multiple range test (P ≤ 0.05).

Table 6. The growth of plantlets of *Polygonatum odoratum* cv. Gungangbeaksea *ex vitro* acclimated in cultural soils after cold storage at 5°C for 8 weeks^z

Cultural soil	Survival (%)	No. of shoots / plantlet	No. of roots / plantlet	Root length (cm)	Fresh wt. (mg) / plantlet
Perlite	71.7 b ^y	2.7 a	16.8 a	6.2 a	1,480 a
Perlite 1: vermiculite 1	100 a	2.4 a	18.0 a	6.6 a	1,513 a
Vermiculite	100 a	2.8 a	14.2 a	5.5 a	1,653 a
Perlite 1: vermiculite 1: peat moss 1	85.0 ab	2.4 a	12.9 a	5.8 a	1,598 a

^zThe plantlets were cultured for 8 weeks in cultural soils.

^yDuncan's multiple range test (P ≤ 0.05).

(Table 5). 발근된 소식물체를 5°C에서 8주간 저온처리한 다음, 온실에서 순화하였다. 배양 8주후, 생존율은 vermiculite와 perlite, vermiculite가 1:1로 혼용된 용토에서 100%로 매우 높았다. 생체중도 1.5 g 이상으로 높아 식물체 순화에 vermiculite 단용 또는 perlite, vermiculite가 1:1로 혼용된 용토가 적합하였다(Table 6, Fig. 1D). 이러한 용토에서 순화율이 높은 것은 통기성과 보습성이 양호한 토양이 둥굴레의 순화에 적합하였다.

적 요

경상남도 농업기술원에서 육성된 둥굴레 '건강백세(*Polygonatum odoratum* cv. Gungangbeaksea)'를 분양받아 배양하였다. 둥굴레 지하경 절편체를 MS 배지에 BA 3.0 mg/L가 첨가된 배지에서 배양하면서 증식된 부정신초괴를 실험재료로 사용하였다.

배양 8주후, 신초의 증식은 TDZ 3.0 mg/L 첨가배지에서 2.8개로 가장 많았으며 생체중도 절편체당 2.32 g으로 가장 높게 나타났다. TDZ와 NAA가 첨가된 배지에서는 신초 및 부정신초괴의 증식이 다소 증가하였다. TDZ 3.0 mg/L와 NAA 5.0 mg/L 첨가배지, TDZ 5.0 mg/L와 NAA 3.0 mg/L 첨가배지에서 신초수 3.7개, 생체중 2.9 g으로 다소 증가하였다. MS 염류농도가 높아질수록 신초 및 부정신초괴의 증식은 저조하였다. 그러나 sucrose 농도가 3%에서 7%로 증가함에 따라 신초수, 생체중 및 부정신초괴의 형성이 증가하였다. 뿐만 아니라 둥굴레 부정신초 절편체에서 신초 및 부정신초괴의 증식은 MS 배지에 TDZ와 NAA 3.0~5.0 mg/L와 sucrose 7%가 첨가된 배지가 적합하였다. 발근율은 IBA 3.0 mg/L 또는 NAA 2.0 mg/L 첨가배지에서 80% 이상으로 높았으며, 발근된 식물체의 순화는 vermiculite 단용 또는 perlite, vermiculite 1:1 혼용처리에서 순화율 100%로 적합하였다.

사 사

본 연구는 농촌진흥청 원예·특용작물 경쟁력 제고 기술개발 연구사업(과제번호 : PJ906938212012)으로 수행되었으며 관계자분들께 진심으로 감사드립니다.

References

- Bisht, S, N.S. Bisht and S. Bhandari. 2012. *In vitro* micro-propagation in *Polygonatum verticillatum* (L.) All. an important threatened medicinal herb of Northern India. *Physi. and Mol. Biol. Plants* 18:89-93.
- Chang, K.J., K.S. Kim, B.J. Park, J.H. Park and C.H. Park. 2007. The effect of segmented tuber size on sprouting and yield of yam (*Dioscorea opposota* Thunb.). *Kor. J. Plant Res.* 20:99-103.
- Earle, E.D. and R.W. Langhans. 1974. Propagation of chrysanthemum *in vitro*. I. Multiple plantlets from shoot tips and the establishment of tissue culture. *J. Amer. Soc. Hort. Sci.* 99:128-132.
- Fellman, C.D., P.E. Read and M.A. Hosier. 1987. Effect of thidiazuron and CPPU on meristem formation and shoot proliferation. *HortScience* 22:1197-1200.
- Han, B.H., H.Y. Joung and J.Y. Ko. 1997. *In vitro* propagation of *Ficus benjamina* by shoot tip culture. *J. Kor. Soc. Hort. Sci.* 38:315-319.
- Han, B.H., B.W. Yae, D.H. Goo and H.J. Yu. 2004. Micro-propagation of *Philodendron wend-imbe* through adventitious multi-bud cluster formation. *Kor. J. Plant Biotech.* 31:115-119.
- Han, B.H., B.W. Yae, K.Y. Paek and M. Lian. 2001. Effects of sucrose and MS salts in the addition of liquid medium on *in vitro* bulblet growth of *Lilium* oriental hybrid 'Casablanca'. *Kor. J. Plant Tissue Cult.* 28:239-242.
- Jang, K.H., J.M. Park, B.S. Jeon and J.H. Kang. 2001. Effects of planting distance on growth and rhizome yield of *Polygonatum odoratum* var. pluriflorum OHWI. *Kor. J. Med. Crop Sci.* 9:238-242.
- Jeong, B.R. and I. Sivanesan. 2012. *In vitro* propagation of *Polygonatum odoratum* DRUCE var. pluriflorum OHWI F. variegatum Y. N. LEE. *Propagation of Ornamental Plants* 12:215-219.
- Kim, Y.H., S.T. Lim and B.H. Han. 2012. *In vitro* micro-propagation of chinese yam (*Dioscorea opposita* Thunb.) through the culture of micro-tuber sections and by addition of liquid medium. *Kor. J. Med. Crop Sci.* 20:190-194.
- Maesato, K, K. Sharada, H. Fukui, T. Hara and K.S. Sarma. 1994. *In vitro* bulblet regulation from bulb scale explants of *Lilium japonicum* Thunb. Effect of plant growth regulators and culture environment. *J. Hort. Sci.* 69:289-297
- Murashige, T. and F. Skoog. 1962. A revised medium for rapid growth and bioassay with tobacco tissue culture. *Physiol. Plant.* 15:473-497.
- Pennazio, S. 1975. Effect of adenine and kinetin on development of carnation tips cultured *in vitro*. *J. Hort. Sci.* 50:161-164.
- Reynolds, J.F. 1987. Chemical regulation in tissue culture; An overview. *HortScience* 22:1192-1194.
- Skoog, F. and C.O. Miller. 1957. Chemical regulation of growth and organ formation in plant tissue cultured *in vitro*. *Sym. Soc. Exp. Biol.* 11:118-131.
- Takayama, S. and M. Misawa. 1979. Differentiation in *Lilium* bulb scales grown *in vitro*. Effect of various cultural conditions. *Physiol. Plant.* 46:184-190.
- Takayama, S. and M. Misawa. 1982. Regulation of organ formation by cytokinin and auxin in *Lilium* bulb scales grown *in vitro*. *Plant Cell Physiol.* 23:67-74.
- Yoon, E.S. and Y.E. Choi. 2002. Micropropagation and mass production of adventitious roots of *Polygonatum odoratum* via the culture of seedling explants. *J. Plant Biotech.* 4:33-37.
- Yun, J.S., S.Y. Son, I.H. Kim, E.Y. Hong and S.I. Park. 2002. Classification of *Polygonatum* spp. collection based on multi-variate analysis. *Kor. J. Med. Crop Sci.* 10:333-339.
- Zhao, D.L., X.Y. Wang, W. Lu and G.C. Zheng. 2003. Plant regeneration via organogenesis from adventitious bud explants of a medicinal herb species, *Polygonatum crytonema*. *In Vitro Cell. & Devel. Biol.-Plant* 39:24-27.
- Zhao, Q, C. Wu, W. Wang, S. Yuan, J. Bao and F. Chen. 2009. *In vitro* plantlet regeneration system from rhizomes and mannose-binding lectin analysis of *Polygonatum cyrtonema* Hua. *Plant Cell, Tissue and Organ Cult.* 99:269-275.
- Zimmerman, P.W. and F. Wilcoxon. 1935. Several chemical growth substances which cause initiation of roots and other responses in plants. *Contribution of Boyce Thomson Institute* 7:209-229.

(Received 20 May 2014 ; Revised 3 July 2014 ; Accepted 15 July 2014)